



**PROTOCOLO METODOLÓGICO PARA LA EVALUACIÓN DEL  
ESTADO DE CONSERVACIÓN DE *PINNA NOBILIS* Y EL  
MONITOREO DE SUS POBLACIONES EN RELACIÓN AL  
EVENTO DE MORTALIDAD MASIVA 2016-2017**

**AUTORES:**

Elvira Álvarez, Maite Vázquez-Luis y Salud Deudero

**Abril 2017**



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE ECONOMÍA, INDUSTRIA  
Y COMPETITIVIDAD



Este documento es una publicación propia del Instituto Español de Oceanografía - Centro Oceanográfico de Baleares.

### **Dirección técnica del Proyecto**

Salud Deudero

### **Coordinación**

Salud Deudero

### **Diseño y maquetación**

Elvira Álvarez y Maite Vázquez

### **Agradecimientos**

Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA)

Las opiniones que se expresan en esta obra son responsabilidad de los autores y no necesariamente del Instituto Español de Oceanografía.





## PRESENTACIÓN

**Autoras:** Elvira Álvarez, Maite Vázquez-Luis y Salud Deudero

Instituto Español de Oceanografía - Centro Oceanográfico de Baleares.

**Colaboradores:** Agustín Barraión, Jose Rafael García-March, Amalia Grau, Iris Hendriks, Santiago Jiménez, Diego Kersting, Diego Moreno, María Moreno, Marta Pérez, Jordi Sánchez.

**Fotografía de Portada:** Maite Vázquez-Luis



### **A efectos bibliográficos debe citarse como sigue:**

Álvarez, E., Vázquez-Luis, M. & Deudero, S. 2017. Protocolo metodológico para la evaluación del estado de conservación de *Pinna nobilis* y el monitoreo de sus poblaciones en relación al evento de mortalidad masiva 2016-2017. Instituto Español de Oceanografía – Centro Oceanográfico de Baleares. 25 pp.

### **Primera edición, 2017**

**Edita:** Instituto Español de Oceanografía - Centro Oceanográfico de Baleares.

Muelle de Poniente s/n. 07015 Palma de Mallorca, Islas Baleares. España

Tel. +34 971 133 720



Este es un documento de acceso abierto distribuido bajo los términos de Creative Commons Attribution (CC-by-NC-ND) Spain 3.0 License.



## INDICE

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....	6
2. CONSIDERACIONES PREVIAS .....	7
2.1 Caracterización de la estación de muestreo.....	7
2.2 Categorías de agregación de las poblaciones de <i>Pinna nobilis</i> .....	8
2.3 Consideraciones sobre los ejemplares de <i>P. nobilis</i> .....	8
3. <i>PINNA NOBILIS</i> : METODOLOGÍAS PARA SU ESTUDIO .....	9
3.1 EVALUACIÓN SIMPLIFICADA.....	9
3.2 EVALUACIÓN COMPLETA .....	9
3.2.1 ABUNDANCIA: Seguimiento de la abundancia de individuos.....	9
3.2.2 CENSO DE LARGA DISTANCIA .....	12
3.2.3 TALLAS: Estructura de tallas de la población .....	12
3.2.4 INVASORAS: Estima de la cobertura por algas invasoras (epibiontes).....	15
3.2.5 DEMOGRAFÍA: Dinámica poblacional de <i>Pinna nobilis</i> .....	16
4. BIBLIOGRAFÍA.....	24





## 1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La nacra (*Pinna nobilis* (Linnaeus 1758)), es un bivalvo filtrador de gran tamaño, endémico del Mediterráneo. Es una especie longeva que puede superar los 28 años de edad (García-March *et al.* 2007) y que se distribuye desde aguas someras a los 60 m de profundidad (García-March



Figura 1. Dos individuos de *Pinna nobilis* en pradera de *P. oceanica* en el PN de Cabrera.

2003; Templado *et al.* 2004). Es el molusco de mayor tamaño del Mediterráneo y uno de los más grandes del mundo, pudiendo alcanzar una longitud máxima de valva de 120 cm (Zavodnik *et al.* 1991). Vive semienterrado en fondos de arena, detritus y praderas de fanerógamas marinas (Katsanevakis 2007). Es una especie estructurante que por su tamaño, longevidad y su distribución contagiosa, genera nuevos hábitats disponibles, aumentando la complejidad del hábitat generando un aumento de biodiversidad y riqueza específica. Su hábitat preferencial son las praderas de *Posidonia oceanica*, de relevante importancia en la sostenibilidad de la biodiversidad mediterránea (Marbà *et al.* 1996). Entre otros factores, la regresión de esta especie está asociada a la degradación de la propia pradera de *P. oceanica*. Por su tamaño y longevidad es una especie muy sensible a los impactos. Durante mucho tiempo sus poblaciones han sido mermadas por la extracción ilegal de ejemplares con fines decorativos (Katsanevakis 2007). Es una especie muy vulnerable al impacto de las anclas y las artes de pesca, lo que la convierte también en un indicador del deterioro mecánico de las praderas por este tipo de impacto (Hendriks *et al.* 2013, Vázquez-Luis *et al.* 2015, Deudero *et al.* 2015). Su abundancia se ve, por tanto, afectada por el deterioro de la pradera o de la calidad del agua (Alomar *et al.* 2015). Las variaciones en abundancia y estructura de tallas de las poblaciones de *Pinna nobilis* puede ser un indicador del impacto sobre los organismos bentónicos de la pradera. Además el corto periodo de vida planctónica, sugiere que tiene una capacidad de dispersión limitada (Deudero *et al.* 2017) y que la recuperación de zonas donde las poblaciones han estado impactadas puede ser muy lenta.

Por todo ello es una especie que se encuentra protegida por la Directiva Hábitat (92/43/CEE), que le concede una protección estricta, incluida en el Anexo IV, así como en el Anexo II del Convenio de Barcelona. A nivel nacional está incluida con la categoría de Vulnerable en el Catálogo Español de Especies Amenazadas (RD 139/11).

Aun siendo una especie emblemática, es poco el conocimiento que se tiene de sus poblaciones que permita la correcta protección y gestión de la especie. Aunque la investigación sobre esta especie ha aumentado considerablemente en la última década (Basso *et al.* 2015), son muchas las lagunas en el conocimiento sobre su biología, ciclo de vida y la conectividad de sus poblaciones.



Desde otoño de 2016 se ha registrado en las costas del litoral español un episodio de mortalidad masiva de *Pinna nobilis* que está afectando gravemente a todas las poblaciones de nuestras costas. La mortalidad ha sido observada en un principio al Oeste de la cuenca Mediterránea dispersándose con la dirección general de las corrientes hacia el Este. Los análisis realizados hasta el momento han revelado que el causante de esta mortalidad parece ser un protozoo parásito del grupo de los Haplosporidios del que está pendiente de identificar la especie (Vázquez-Luis et al. 2017). Dada la vulnerabilidad de la especie y la gravedad de dicho episodio, se hace imprescindible establecer un marco común de actuación en cuanto al seguimiento de sus poblaciones por los distintos grupos que trabajan con esta especie en el litoral español. La detección de la mortalidad, el seguimiento y la divulgación juegan un papel crucial para analizar el alcance del problema y evaluar la recuperación de las poblaciones. De esta necesidad surge el presente trabajo, que trata de integrar las metodologías que ya se conocen para establecer un protocolo de actuación común a nivel regional consensuado a través de un taller de expertos. El seguimiento de la especie a escala regional proporcionará información del estado de las poblaciones a nivel nacional, y servirá de base para proponer medidas de gestión y mitigación para reducir la posibilidad de un evento similar en el futuro. Además sería fundamental trasladar esta experiencia pionera al resto de países del Mediterráneo para ayudar a una detección temprana de este fenómeno que parece no estar afectando, por el momento, a países vecinos.

## 2. CONSIDERACIONES PREVIAS

A causa del reciente episodio de mortalidad masiva se realiza esta propuesta para unificar metodologías de estudio de las poblaciones de *Pinna nobilis*, y para realizar un seguimiento de su supervivencia. Para la redacción de este trabajo se ha contado con la colaboración de un gran número de investigadores que trabajan con la especie y que han aportado su punto de vista para intentar unificar criterios a la vista de la situación actual.

### 2.1 Caracterización de la estación de muestreo

Para el estudio de las poblaciones de cualquier especie es importante definir la escala espacial de trabajo, que viene condicionada por la distribución espacial de dicha especie en la zona. Siempre que sea posible es importante georreferenciar la zona de muestreo para determinar el área abarcada por el muestreo realizado. Puede hacerse referenciando los transectos, de longitud conocida, marcando el inicio y el final de cada uno de ellos. Si no es posible georreferenciar el área de muestreo, es importante proporcionar una referencia del área prospectada, aunque sea una estima aproximada de dicha superficie.

La distribución de la especie viene también determinada por la profundidad a la que se encuentra, que en el caso de *P. nobilis* es una distribución que abarca desde las cotas más someras hasta una profundidad de 50-60 m. Es recomendable por tanto que los muestreos se realicen siempre en la misma cota de profundidad y que se anote la cota a la que se ha realizado cada censo.

En el caso de *P. nobilis* su distribución espacial dependerá también del hábitat disponible. El hábitat principal de esta especie son las praderas de *Posidonia oceanica*, aunque en determinadas zonas se encuentra en abundancia en praderas de *Cymodocea nodosa*, mata muerta de *P. oceanica*, arena, etc. Así pues a la hora de estudiar las poblaciones de *P. nobilis*



en un área concreta, han de describirse también los hábitats presentes en cada muestreo, ya que esta información será necesaria para los análisis posteriores de los datos.

## **2.2 Categorías de agregación de las poblaciones de *Pinna nobilis***

La nacra es un molusco que por lo general se distribuye en el medio de forma contagiosa formando poblaciones con escasa densidad de individuos a lo largo de amplias superficie, por lo general de 1 individuo/100 m<sup>2</sup> (García-March, 2005), aunque a veces se encuentran agregaciones de mayor densidad. Así en función del tipo de agrupación observada, las poblaciones de nacra se pueden clasificar según las siguientes categorías de agregación:

- Poblaciones extremadamente densas, en bahías someras y muy resguardadas, lagunas costeras y similar, donde se observan agregaciones de muchos individuos que pueden llegar a superar los 5 ejemplares/m<sup>2</sup> (García-March, 2005).
- Poblaciones de alta densidad, que representan aquellas agregaciones puntuales que se observan en determinadas zonas y que pueden superar los 10 ejemplares/100 m<sup>2</sup>
- Poblaciones muy fragmentadas, con peligro de desaparición de sus poblaciones.

## **2.3 Consideraciones sobre los ejemplares de *P. nobilis***

A la hora de evaluar la especie y dada la situación actual de mortalidad masiva, es importante contabilizar tanto los ejemplares vivos como los muertos para determinar el porcentaje de la población afectada. Entre los ejemplares vivos se debe distinguir los vivos que están en buenas condiciones, de los que están vivos pero enfermos:

- *Ejemplares vivos*: son aquellos que se encuentran en buenas condiciones, en general se cierran al detectar al buceador cuando se acerca.
- *Ejemplares enfermos*: son aquellos que tardan mayor tiempo en cerrarse y necesitan un estímulo de contacto para cerrarse definitivamente. En estos ejemplares el manto se encuentra retraído, no alcanza el borde de la concha, que es lo habitual. Además las branquias, que en ejemplares en buen estado se encuentran juntas con una unión visible por el buceador desde el plano vertical, en el caso de ejemplares enfermos se observan separadas.

En los ejemplares muertos, al menos durante este primer periodo de mortalidad, se debe distinguir entre los individuos que se han muerto recientemente de los que llevan tiempo muertos:

- *Ejemplares muertos recientemente*: en los que se observa la concha limpia y brillante en su interior, y en la parte exterior de las valvas se aprecia la característica zona nacarada en la parte anterior de la misma (parte más puntiaguda).
- *Ejemplares muertos de hace tiempo*: se identifican fácilmente porque son aquellos en los que la parte externa e interna de la concha está recubierta por epibiontes, organismos incrustantes, etc.

En cuanto a la orientación con respecto al sustrato, en todos los casos (vivas, enfermas o muertas) pueden encontrarse verticales, que es su posición más común, o tumbadas, como después de una tormenta.





### 3. PINNA NOBILIS: METODOLOGÍAS PARA SU ESTUDIO

A continuación se presentan descriptores para la caracterización de las poblaciones de *Pinna nobilis* y para la evaluación del estado de conservación de sus poblaciones. Se han distinguido dos tipos de evaluaciones, según el tipo de muestreo: Evaluación simplificada y Evaluación completa

#### 3.1 EVALUACIÓN SIMPLIFICADA

Este descriptor se lleva a cabo para muestreos puntuales, por si en una zona se detecta mortalidad masiva de nacra, pero no es posible realizar la evaluación completa que se describe en el presente protocolo. En este caso se puede llevar a cabo una evaluación simplificada que proporciona una estima para determinar el alcance de la mortalidad.

En este caso se contará el número total de nacras observadas, entre las que se distinguirá el número de ejemplares vivos, el número de ejemplares muertos y el número de ejemplares enfermos. Además, siempre que sea posible se debe intentar estimar el área prospectada o en su defecto anotar el tiempo de inmersión dedicado a la búsqueda, anotar la profundidad y el hábitat muestreado.



#### 3.2 EVALUACIÓN COMPLETA

Para muestreos específicos y programas de seguimiento de la especie, se recomienda llevar a cabo un muestreo más completo. A continuación se describen los descriptores recomendados. Además de las metodologías propuestas a continuación, también se pueden llevar a cabo otras metodologías descritas por otros autores para el estudio de las poblaciones de *P. nobilis* (ver García-March & Vicente, 2006).

##### 3.2.1 **ABUNDANCIA: Seguimiento de la abundancia de individuos**

Para la medida de la abundancia de individuos de las poblaciones de *Pinna nobilis* se determina la densidad de ejemplares vivos, así como la de ejemplares enfermos y muertos. Se proponen dos metodologías no destructivas para llevar a cabo, tanto en los hábitats óptimos (praderas de fanerógamas principalmente), como en el resto de hábitats donde está presente.

##### **ABUNDANCIA: Metodologías propuestas**

###### **A - Transectos lineales.**

Los transectos lineales se llevarán a cabo en zonas de cota de profundidad similar y el recuento se realizará por dos buceadores entrenados. Los transectos propuestos son de 30 m de



longitud lineal, mientras que la anchura del transecto será variable en función del hábitat prospectado, eligiéndose una anchura óptima para no perder eficacia en la detectabilidad de individuos. En el caso de praderas de *P. oceanica* de gran densidad de haces y cobertura, el ancho de banda se puede reducir hasta donde tengamos la certeza de que no se produce una disminución en el poder de detección de los individuos. En este caso se calculará la nueva superficie abarcada con el fin de expresar la densidad en ind./100 m<sup>2</sup>. Por ejemplo en el caso de praderas de *Posidonia oceanica* normalmente se establece una anchura total de 2,5 m (1,25 m a cada lado de la cinta) con una superficie total de muestreo de 75 m<sup>2</sup> (Vázquez-Luis *et al.* 2014) (Figura 2). Con respecto a la replicación se recomienda que el número de transectos por estación no sea inferior a 5.

Para la toma de datos se tomará el punto GPS de uno de los dos extremos de la cinta mediante una boya a superficie así como la profundidad inicial y final del transecto. Cada buceador realizará el muestreo a cada lado de la cinta y anotará el sentido de su recorrido (si es de 0 a 30 m o de 30 a 0 m) (Figura 2). Al detectar un ejemplar de *P. nobilis* se procederá a medir la anchura máxima de la valva, que proporciona información sobre la estructura de tallas de la población (ver descriptor de TALLAS). También se anotará el metro de cinta donde aparece el individuo para determinar la distribución espacial de las nacras. De cada ejemplar de *P. nobilis* se tomarán datos de: metro de cinta en el que se encuentra, estado (viva, enferma o muerta), posición (vertical, tumbada), y anchura máxima de la valva (cm).

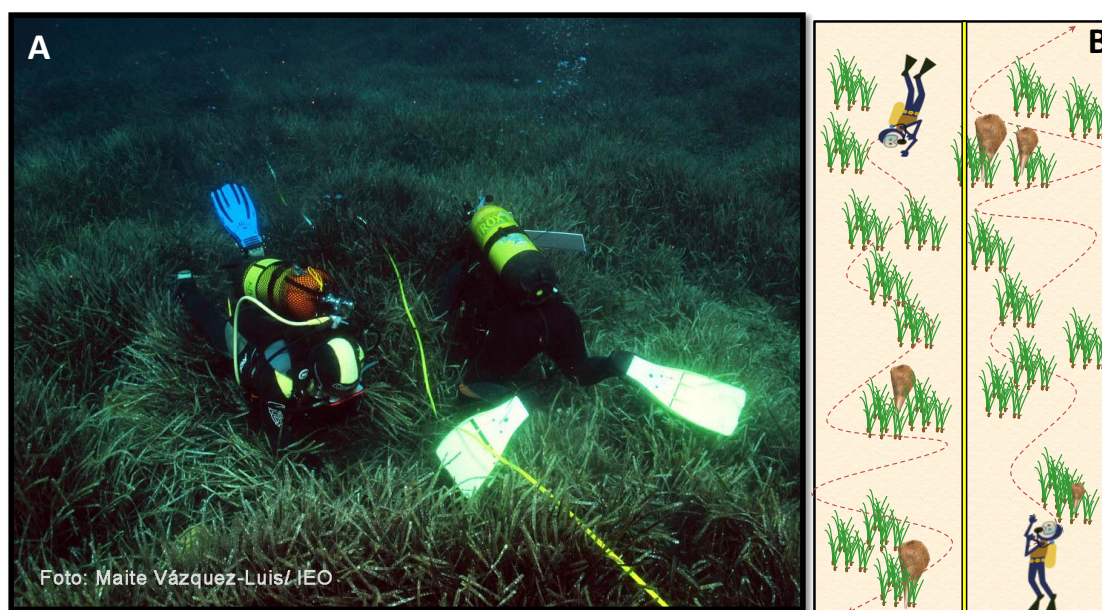


Figura 2. A) Buzos censando ejemplares de *P. nobilis* a lo largo de un transecto de 30 x 2,5 m en Cabrera. B) Esquema del sistema de censos, en el que cada buceador comienza por un extremo del transecto.

### B - Búsqueda circular.

Al igual que ocurría con los transectos, las búsquedas circulares se llevan a cabo en zonas de cota de profundidad similar y el recuento se hará por dos buceadores entrenados. Mediante esta metodología la búsqueda de individuos se realiza a través del muestreo de círculos. Se propone un recuento de todos los ejemplares detectados en un círculo de al menos 6 m de radio, que supone en este caso una superficie de muestreo de 113 m<sup>2</sup>. El centro del círculo se marcará con una piqueta y un boyarín y se tomará el punto GPS del centro del círculo



mediante una boya a superficie. Se recomienda que el número de círculos muestreados por estación no sea inferior a 3. La prospección de la superficie del círculo se puede realizar de dos maneras:

- A) Desde el centro del círculo se extienden dos cintas métricas o cabos plumados de longitud igual al diámetro elegido (ej. para círculo de radio 6 m cada cabo tendrá una longitud de 12 m), uno se extenderá dirección N-S y el otro E-W. Por lo tanto cada buceador realizará la prospección de 2 cuadrantes (Figura 3A).
- B) Desde el centro del círculo se extiende una cinta métrica hasta una longitud igual al radio elegido, donde se situarán los dos buceadores repartiendo equitativamente la superficie a explorar (ej. Un buceador barre la zona comprendida entre 0-4 m y el otro de 4-6 m, para más detalles ver García-March & Nardo 2006) (Figura 3B).

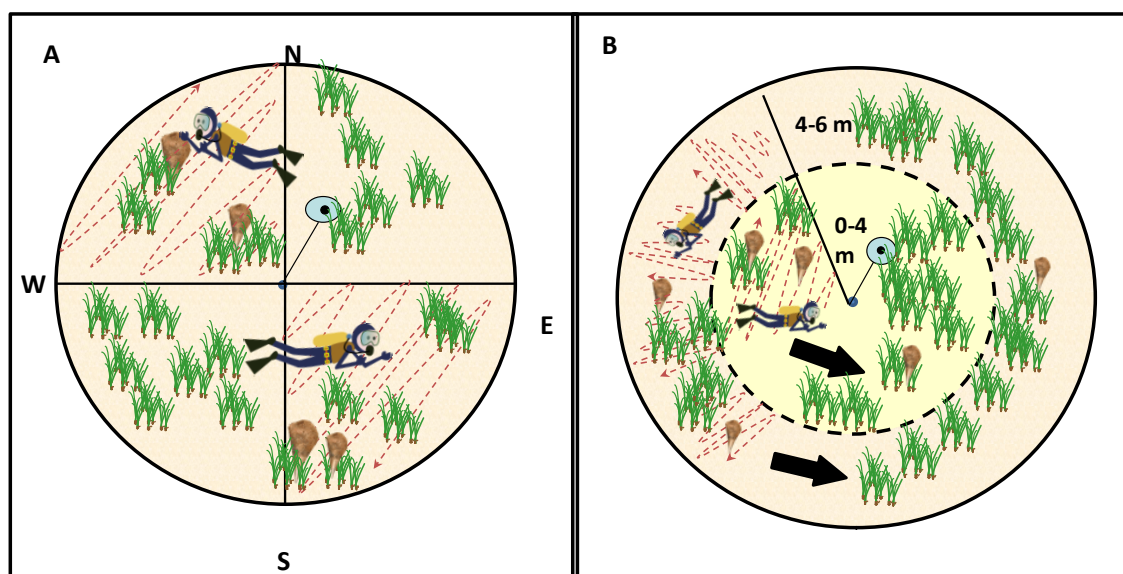


Figura 3. Esquema de la búsqueda circular por los dos métodos propuestos. A. Búsqueda de individuos dividiendo el círculo en 4 sectores. B. Búsqueda de individuos dividiendo el círculo en dos sectores en función del radio del círculo.

Para ambos tipos de búsqueda se anotará la profundidad del centro del círculo. De cada ejemplar de *P. nobilis* se tomarán datos de: distancia de cada individuo del centro del círculo (m) y su orientación en grados (0-360°), estado (viva, enferma o muerta), posición (vertical, tumbada), y anchura máxima de la valva (cm).

#### ABUNDANCIA: Resultados

Dada la distribución espacial de la especie, la densidad media de la población se expresará en ind./100m<sup>2</sup>. El cálculo de la densidad media de individuos de una determinada área se realizará teniendo en cuenta todas las réplicas (transectos/círculos) realizadas en la zona, aunque el valor de densidad sea cero.

#### ABUNDANCIA: Periodicidad

Se recomienda que la evaluación de la abundancia de las poblaciones de nacra se realice anualmente o al menos cada dos años. Para determinar la época del año en la que deben realizarse los trabajos es recomendable tener en cuenta la periodicidad y la distinta morfología



de las hojas de la pradera de *P. oceanica*, su principal hábitat. La longitud foliar va a condicionar el poder de detección de los ejemplares, que en verano quedan ocultos por la dosel foliar de la pradera, mientras que en invierno la longitud de la hoja es menor lo que facilita la capacidad de detección de ejemplares. Se recomienda por tanto que la época más favorable para la realización de los muestreos sea entre los meses de octubre a diciembre, que es cuando la longitud del dosel foliar es menor. En cualquier caso, en este tipo de trabajos, es recomendable que los seguimientos con carácter anual o bienal se realicen siempre en la misma época del año.

### 3.2.2 CENSO DE LARGA DISTANCIA

En zonas donde la distribución de los ejemplares esté muy fragmentada o donde la mortalidad haya sido muy elevada, puede ser necesario realizar otro tipo de censos para localizar ejemplares o bien localizar ejemplares vivos. En estos casos no es posible realizar transectos de longitud fija, y se recomienda que se lleven a cabo recorridos de larga distancia. Para este tipo de censos el uso de torpedos y dispositivos submarinos similares pueden ser de gran ayuda. Como la longitud recorrida es mayor, se recomienda georreferenciar cada cierto periodo de tiempo a lo largo del censo, y no sólo al inicio y final del transecto.

#### CENSO DE LARGA DISTANCIA: Metodología propuesta

Existen varias metodologías al respecto, la propuesta en el presente trabajo consiste en que el buceador lleve una boya enganchada a superficie, para que pueda ser seguido por la embarcación y estar localizable en todo momento. El ordenador de buceo debe estar sincronizado con la hora del GPS y cuando el buceador localiza un ejemplar anota la hora del ordenador. La sincronización entre el GPS y el ordenador de buceo permite que la localización de ejemplares pueda ser muy precisa. En este tipo de muestreos, al detectar un ejemplar de *P. nobilis* se procederá a medir la anchura máxima de la valva (cm)(ver descriptor de TALLAS), anotar la hora (para determinar la posición), estado (viva, enferma o muerta) y su posición (vertical, tumbada).

#### CENSO DE LARGA DISTANCIA: Periodicidad

Al igual que en el descriptor de ABUNDANCIA se recomienda que los censos de larga distancia para evaluar la distribución de ejemplares y localizar supervivientes de nacra se realice anualmente o al menos cada dos años. En cuanto a la época del año en la que deben realizarse los trabajos, como ya se ha comentado en el caso del descriptor de ABUNDANCIA, la época más favorable es cuando la longitud del dosel foliar es menor, entre los meses de octubre a diciembre. En cualquier caso, en este tipo de trabajos, es recomendable que los seguimientos con carácter anual o bienal se realicen siempre en la misma época del año.

### 3.2.3 TALLAS: Estructura de tallas de la población

Para obtener una estima de la edad de las nacras se han descrito diversos métodos tomando diversas medidas de la concha con mayor o menor grado de precisión, en función del tipo de estudio, para asociar la talla a la edad del individuo (García-March and Márquez Aliaga 2007, García-March *et al.* 2011). Así los estudios relativos al crecimiento son los que necesitan de medidas más precisas. En el presente protocolo para el seguimiento de las poblaciones, dado que no se va a proponer el crecimiento como un indicador, no será necesario que se tomen



todas las medidas biométricas, que suponen un consumo excesivo de tiempo. Sin embargo sí que es importante estructurar la población en clases de talla, por tanto se propone clasificar los ejemplares en función del ancho máximo de la concha como única medida biométrica a tomar. Se ha demostrado que esta medida correlaciona con la longitud total de la concha para cada población (observación personal), por lo que tomando una única medida podemos clasificar cada ejemplar en una clase de talla y obtener una estima de la madurez de la población.

#### TALLAS: Metodología propuesta

La toma de datos de este descriptor se realiza siempre que se localice un ejemplar, por tanto se llevará a cabo simultáneamente con el resto de descriptores. Para determinar la estructura de tallas de la población de *P. nobilis*, a cada uno de los individuos censados se le medirá la anchura máxima de la valva. En los individuos de pequeño tamaño la anchura máxima se encuentra en la parte superior de la valva, mientras que en los individuos de gran talla, por lo general la anchura máxima se mide en el punto de inflexión de la misma (Figura 4). Es posible que en algunos ejemplares la anchura máxima se encuentre en un punto diferente del punto de inflexión, en este caso se tomará la anchura máxima aunque no coincida con el punto de inflexión. Los valores de anchura máxima de todos los individuos medidos se utilizarán para estimar la estructura demográfica de cada población objeto de estudio.

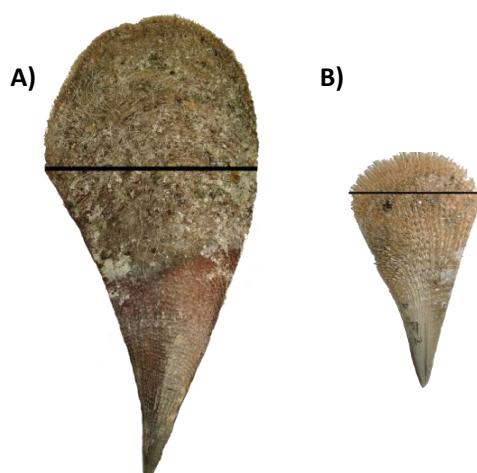


Figura 4. Anchura máxima de dos individuos de *Pinna nobilis*, (A) anchura máxima medida en el punto de inflexión en un individuo adulto y (B) anchura máxima medida en un individuo juvenil.

Para medir la anchura máxima de la concha de cada ejemplar de *P. nobilis* se propone hacerlo con un dispositivo en forma de L diseñado a tal efecto (Figura 5), que sirve también de tablilla para apuntar el resto de datos asociados. Es un dispositivo fácil de construir, que puede hacerse en diversos materiales de tipo plástico, en el ejemplo que se presenta es del mismo material de las tablillas, un PVC blanco en el que se puede escribir con lápiz.

Para medir el ancho de la concha, una vez encontrada la nacra, se sitúa el dispositivo en horizontal, lo más perpendicular posible a la valva. Su forma en L facilita tener uno de los lados apoyado en la valva (el lado corto de la L), mientras que en el lado largo es donde se marca el ancho máximo con el lápiz (Figura 5). A cada marca que hagamos le escribiremos la información relativa a cada individuo: número de transecto (T1, T2,...), el metro de la cinta en





donde se encuentre el ejemplar (1 m, 3,5 m, 24 m.....), el estado (V viva, M muerta, E enferma) y la posición en la que esté el ejemplar (T tumbada, V vertical).

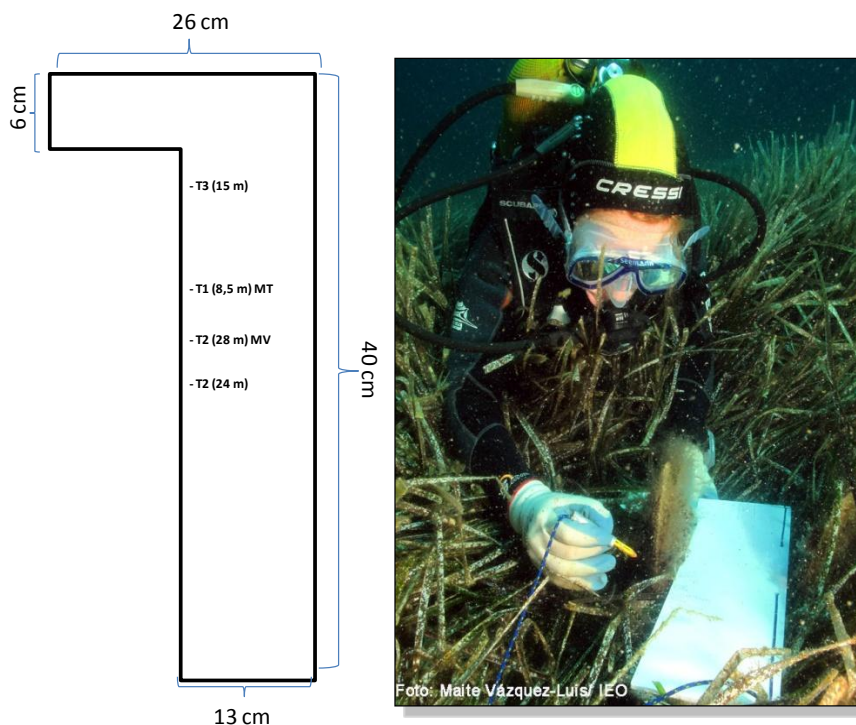


Figura 5. Esquema del dispositivo en forma de L, diseñado para determinar el ancho máximo de cada valva. Se muestra un ejemplo donde cada marca indica: la medida de la valva, el transecto dónde se ha encontrado (T1, T2,...), el metro de cinta (2m, 5m,...), su posición (Tumbada T, Vertical V) y estado (Muerta M, enferma E).

Cuando los ejemplares se mueren, es posible que se encuentren tumbados en el fondo, por ejemplo tras una tormenta sobretodo en zonas someras. En estos casos es posible también tomar la medida de la longitud total de la concha y no tener que estimarla a posteriori. Así se tomarán ambas medidas, anchura máxima y longitud total de la concha. Para tomar la medida de la longitud total de la concha se puede utilizar el dispositivo por su parte más larga, o llevar para ello una cinta métrica de plástico flexible, tipo “costurera” por ejemplo. Ha de tenerse en cuenta que a causa de la curvatura de la concha la medida de la longitud total es la de la proyección de la valva sobre la cinta o la tablilla (Figura 6).

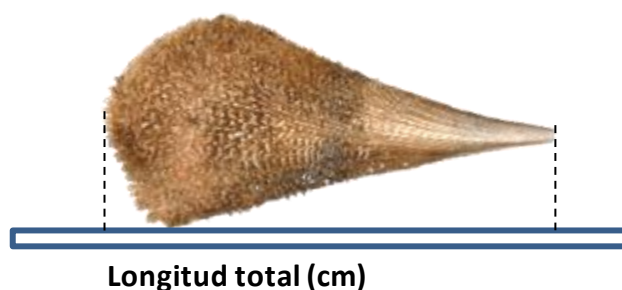
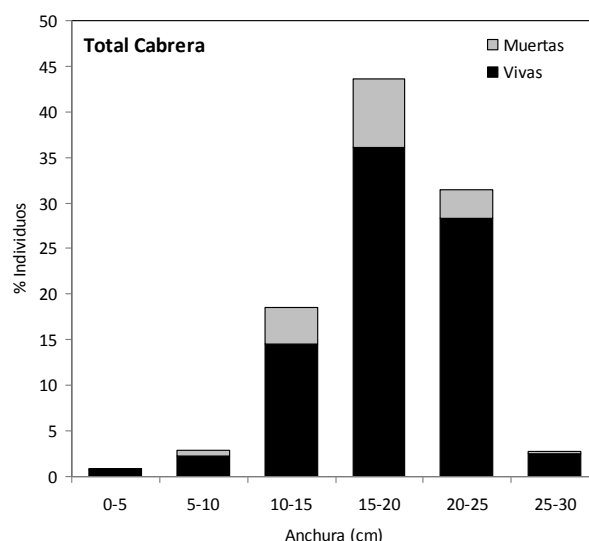


Figura 6. Proyección de la longitud total de la valva sobre la tablilla para la medida de la longitud total

## TALLAS: Resultados



La población censada se clasificará según el ancho máximo de la valva en clases de tallas de 5 cm de intervalo. De esta forma se obtendrá un número de individuos para cada clase de talla, que también puede expresarse en forma de porcentaje. Por ejemplo en una población donde el ancho máximo ha sido como máximo 27 cm, habría 5 clases de talla, y cada una de ellas contribuye a la población según el número de ejemplares que haya en cada una de ellas (Figura 7).



**Figura 7.** Distribución una población de *P.nobilis* en clases de talla según el ancho máximo de la concha en el PN de Cabrera. En el histograma se muestran individuos vivos y muertos (N=1873) (Vázquez-Luis *et al.*, 2015).

En la representación grafica se muestra cómo es la población, están representadas todas las clases de talla y qué clase de talla contribuye más a la población.

#### TALLAS: Periodicidad

Se propone que tanto la periodicidad como la época del año en que ha de evaluarse esta variable, vayan asociadas al descriptor de ABUNDANCIA.

#### 3.2.4 INVASORAS: Estima de la cobertura por algas invasoras (epibiontes)

La presencia de algas invasoras en la valva es una de las causas que pueden complicar la conservación de la especie, ya sea afectándola directamente como alterando su hábitat (Ballesteros *et al.*, 2007; Vázquez-Luis, *et al.* 2014). Se propone pues evaluar la densidad de las especies de macroalgas invasoras más frecuentes, que son: *Caulerpa cylindracea*, *Lophocladia lamellandii* y *Acrothamnion preisii*.

#### Metodología propuesta

Esta variable se realiza simultáneamente con los descriptores de ABUNDANCIA y TALLAS. Durante los censos de abundancia para evaluar la densidad de ejemplares de la de la población de *P. nobilis*, en cada uno de los ejemplares censados se propone evaluar también el grado de cobertura por macroalgas invasoras. Se estima como el porcentaje de recubrimiento de las valvas por cada especie de macroalga según metodología propuesta por Vázquez-Luis *et al.* (2014) basado en el método Braun-Blanquet (Figura 8). Se ha diseñado un índice de cobertura (cover index; CI) para medir la cobertura de las especies invasoras, a cada especie se le dio un



valor comprendido entre las siguientes categorías: CI0 (0%), CI1 ( $\leq 25\%$ ), CI2 (25-50%), CI3 (50-75%) y CI4 ( $>75\%$ ) (Figura 9) (Vázquez-Luis, *et al.* 2014; Banach *et al.* 2015)

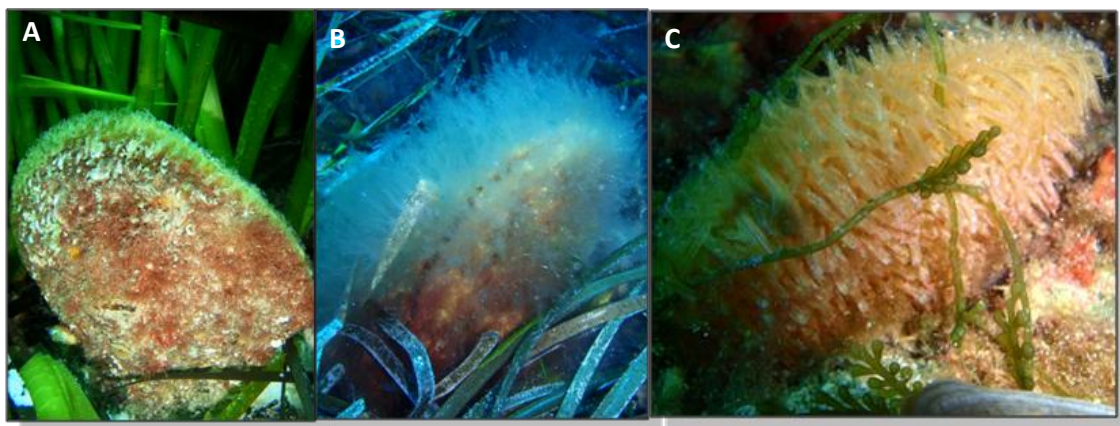


Figura 8. Ejemplares de *Pinna nobilis* epifitados por las tres macroalgas invasoras. A) *Acrothamnion preisii*, B) *Lophocladia lamellandii*, y C) *Caulerpa cylindracea*.



Figura 9. Individuos de *P. nobilis* epifitados por *L. lamellandii* con distintos grados de cobertura: A) Valor de cobertura CI 1, B) Valor de cobertura CI 2, C) Valor de cobertura CI 3, y D) Valor de cobertura CI 4.

#### INVASORAS: Resultados

Este descriptor se expresa en porcentaje de cobertura de la macroalga sobre la valva. Los resultados se expresan en un valor de CI (0-4) que refleja una estima del porcentaje de cobertura de cada especie de macroalga propuesta (Vázquez-Luis, *et al.* 2014).

#### INVASORAS: Periodicidad

Se propone que tanto la periodicidad como la época del año en que ha de evaluarse esta variable, vayan asociadas a los descriptores de ABUNDANCIA y TALLAS.

#### 3.2.5 DEMOGRAFÍA: Dinámica poblacional de *Pinna nobilis*

Los estudios de demografía de las poblaciones necesitan un periodo de tiempo de estudio más largo, necesario para conocer la dinámica de las poblaciones de la especie objeto de estudio, y son muy útiles a la hora de evaluar la estabilidad de las poblaciones y su evolución en el tiempo (García-March *et al.*, 2007). En el caso de la nacra el estudio de la demografía presenta



dificultades, una de ellas es la propia distribución de la especie, a menudo fragmentada, que dificulta la localización de ejemplares. La distribución de las nacras en una pradera suele ser contagiosa y su densidad poblacional baja, siendo lo más común menos de 10 individuos por cada 100 m<sup>2</sup> (García-March, 2005). Para el seguimiento demográfico es necesario tener un número mínimo de ejemplares por parcela, ya que implica el seguimiento de los mismos ejemplares durante varios años. Este motivo determinará el tipo de parcela, que se tiene que diseñar para contener un número suficiente de ejemplares marcados.

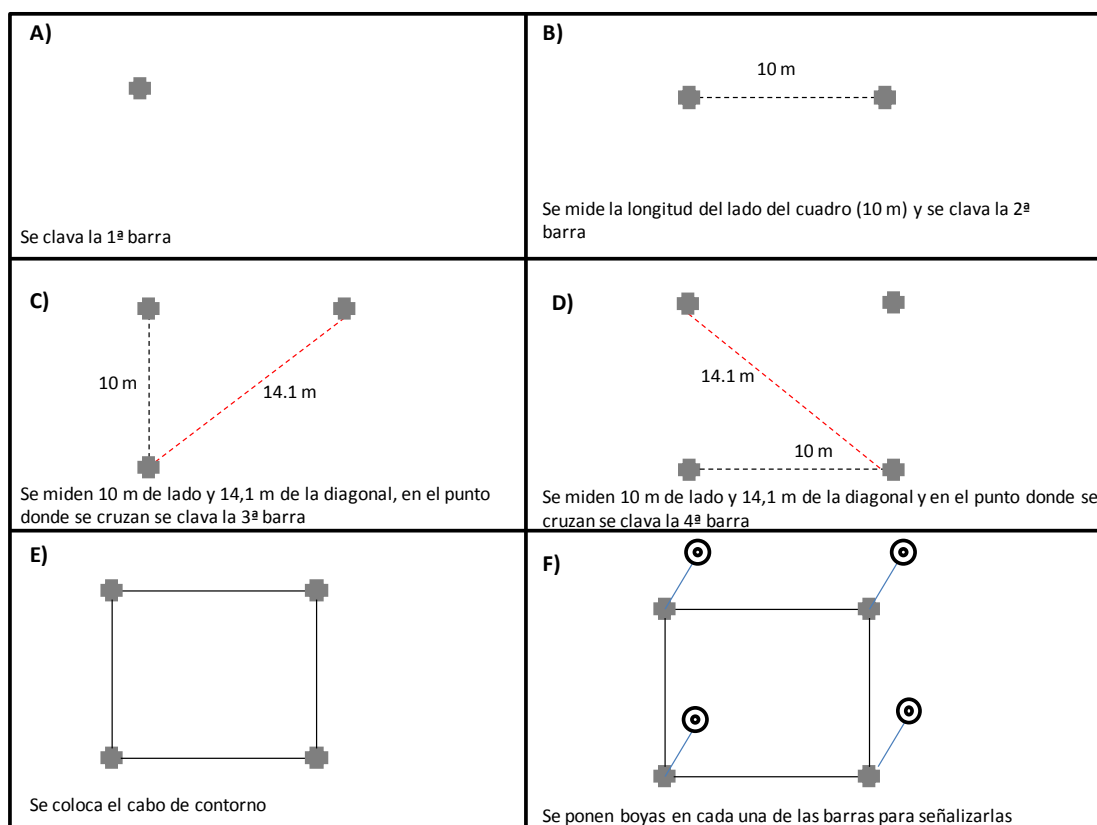
### **DEMOGRAFÍA: Metodología propuesta**

En función de los resultados obtenidos en la fase exploratoria, por medio de los censos de abundancia, se obtendrá una visión del área del estudio y de las zonas de mayor densidad de ejemplares, si las hay. Para el estudio de la demografía poblacional se propone pues definir áreas limitadas con individuos marcados a los que se les realizará un seguimiento anual. Estas áreas o parcelas, que pueden tener tamaño variable, se propone instalarlas en zonas de alta densidad de individuos o en zonas de agregación de varios ejemplares. Estas parcelas permanentes deben contar con un tamaño mínimo de superficie de 100 m<sup>2</sup> para contener un número de ejemplares suficiente. La forma de la parcela puede variar, en el presente protocolo se proponen dos, la parcela cuadrada, de 10 x 10 m de lado y la parcela circular, de unos 5,6 m de radio.

#### **A. Parcelas cuadradas**

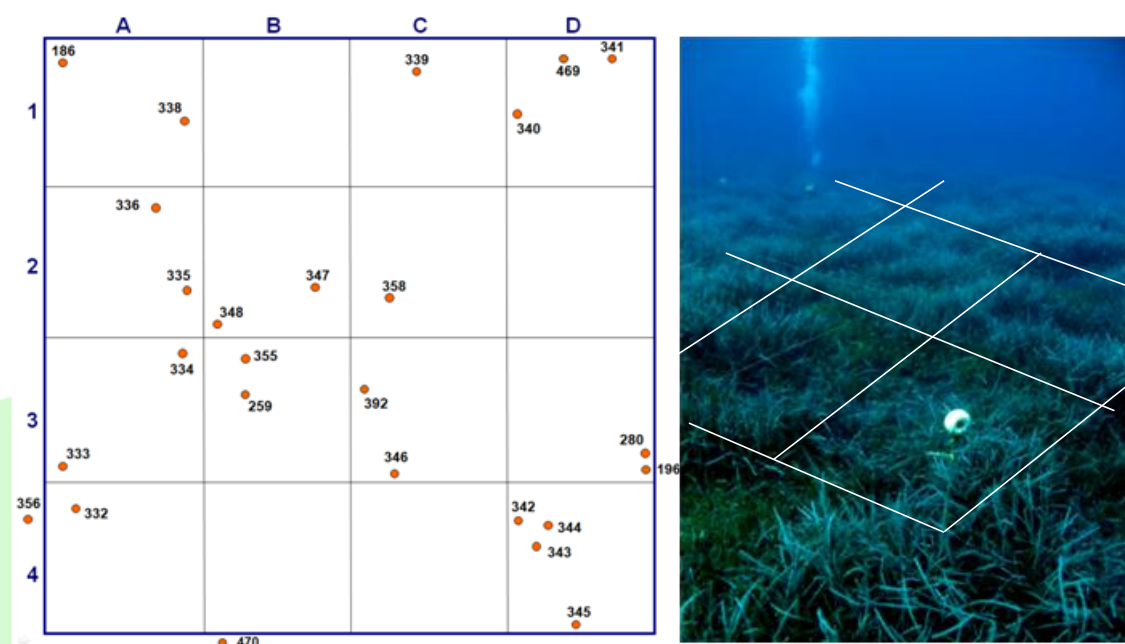
En el caso de la parcela cuadrada se aumenta la precisión en el muestreo del seguimiento demográfico, pero el montaje de la misma consume bastante tiempo. Se recomienda en zonas resguardadas o con bajo hidrodinamismo. Los vértices de la parcela se delimitan por medio de barras de metal galvanizado u otro material resistente al agua de mar. Para determinar la posición de las barras a la hora de instalar rápidamente un cuadrado regular se recomienda utilizar dos cintas métricas o cabos de medida conocida para ubicar las barras correctamente. Es importante que las barras estén señalizadas por una boya que flote por encima del dosel foliar para localizarlas luego fácilmente. Se ha realizado un esquema paso a paso de la instalación de la parcela cuadrada (Figura 10) en donde se han resumido los pasos básicos a seguir. Una vez posicionadas las barras se unirán entre sí por un cabo, que constituirá el contorno de la parcela.





**Figura 10.** Procedimiento para la instalación de barras para delimitar el área de la parcela cuadrada regular de 10 m de lado. Las cruces grises representan las barras, las líneas negras las distancias de los lados del cuadrado y las líneas rojas la medida de las diagonales, necesarias para colocar la tercera y cuarta barra.

Una vez instalado el contorno se puede subdividir la parcela en varias partes para facilitar la ubicación de los ejemplares (Figura 11). Puede optarse por subdividir la parcela en 16 cuadros de 2,5 m de largo si la densidad de ejemplares es alta, como en el caso de Cabrera.



**Figura 11.** Esquema de parcela cuadrada situada en Cabrera a 20 metros de profundidad. Cada punto rojo representa un ejemplar de nacra marcado con el número de la etiqueta.





## B. Parcelas circulares

En el caso de la parcela circular, el montaje es más simple ya que sólo ha de señalizarse el centro del círculo con una barra o estructura de fondeo señalizada con una boya, para facilitar su localización en posteriores visitas. La señalización del centro del círculo es la única estructura que quedará permanentemente en el fondo. De manera similar a lo que ocurría para evaluar el descriptor de ABUNDANCIA con los muestreos circulares, cada vez que se vaya a muestrear, se deberá subdividir el círculo en 4 sectores con un cabo que los señalice. En el caso de un círculo de radio 6 m, serían dos cabos de 12 m, orientados según las coordenadas geográficas (N-S y E-W). Cada sector es muestreado por un buzo que llevará una cinta métrica desde el centro, de longitud igual al radio del círculo (6 m según el ejemplo anterior), para saber dónde está el final del círculo y muestrear correctamente toda la superficie del sector (Figura 12).

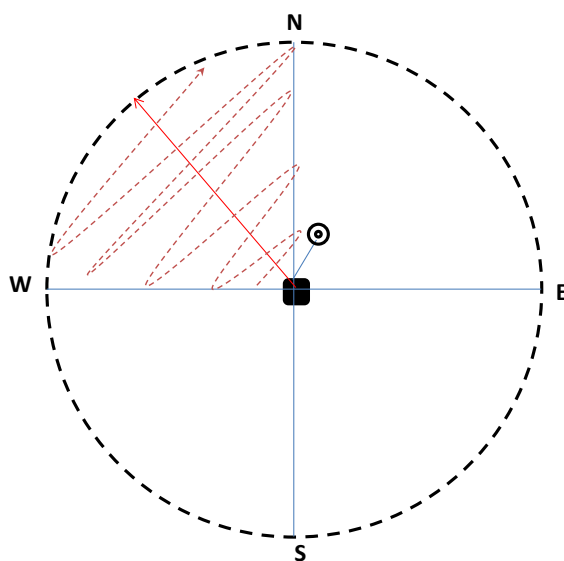


Figura 12. Esquema de una parcela circular, con el fondeo que señala el centro del círculo y los cabos que lo dividen en 4 sectores. La flecha de color rojo representa la cinta métrica que lleva el buceador, de longitud igual al radio del círculo.

## Búsqueda y marcaje de individuos

Para la toma de datos se recomienda dividir las parcelas para poder realizar un cartografiado más preciso. En ambos casos (parcela cuadrada o círculo) se cartografiará la posición de cada ejemplar y se marcará con un número identificativo. Para el marcaje de los ejemplares se propone el uso de métodos no invasivos y de perdurabilidad suficiente que varían en función de la talla del animal. Así se proponen marcas para los ejemplares adultos (A y B) y otra para los adultos y juveniles (C):

- A) Masilla: sólo recomendado para individuos de talla grande. Se fija la etiqueta identificativa a la valva por medio de una masilla de dos componentes (Figura 13A).
- B) Brida: sólo recomendado para individuos de talla grande. Se fija una brida grande, con una etiqueta numerada de plástico, en la base del individuo (Figura 13B).
- C) Piqueta: Para individuos adultos y de talla pequeña, se fija una etiqueta identificativa de plástico a una piqueta, que se clavará cerca de la base del individuo (Figura 13C, D y E). Las etiquetas pueden ser numeradas (Figura 13C), troqueladas con un código de agujeros (Figura 13E) o llevar impresa más información (Figura 13D)

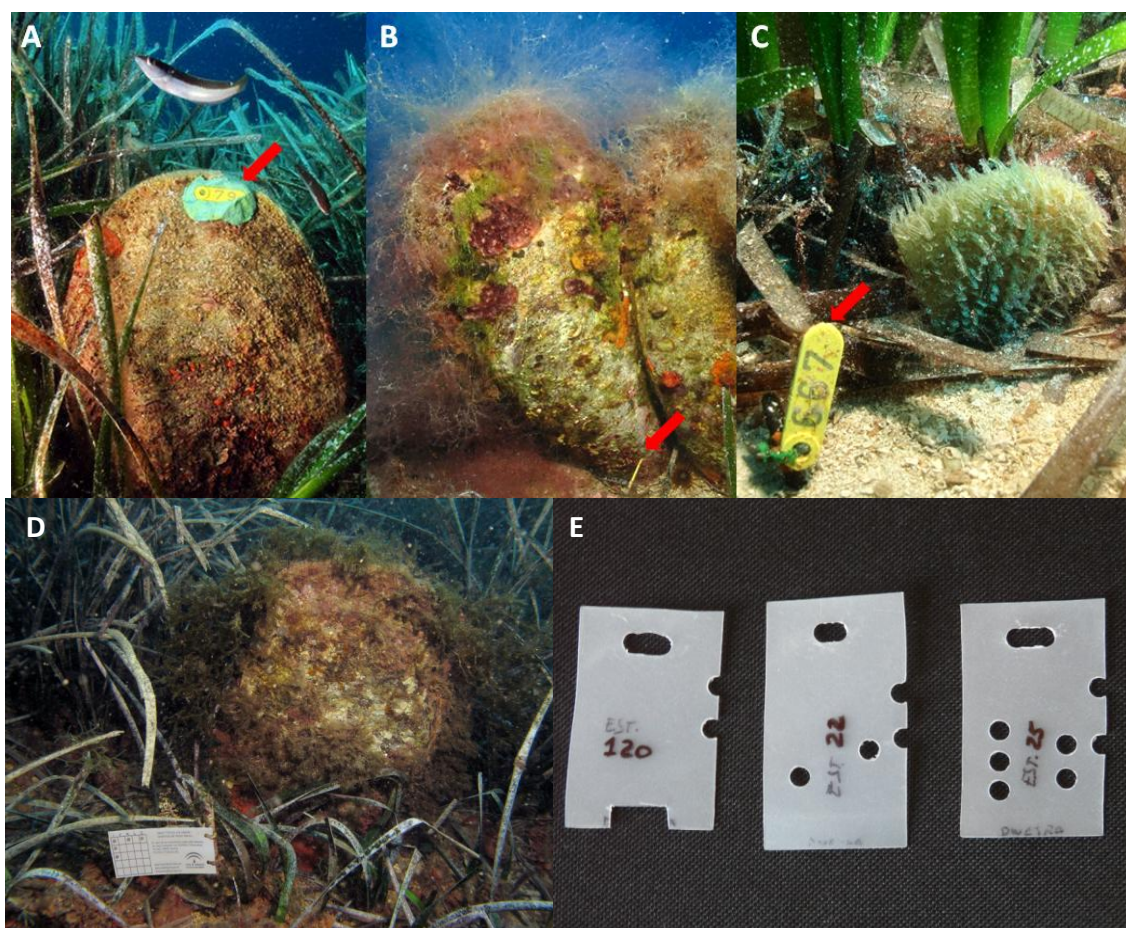


Figura 13. Ejemplares de *Pinna nobilis* marcados con los diferentes tipos de marcas utilizadas. A) Individuo adulto marcado con masilla en la concha, B) Individuo adulto marcado con una brida en la base de la cocha C) Individuo juvenil marcado con una piqueta y una etiqueta numerada D) Individuo adulto marcado con varilla y etiqueta identificativa E) Etiquetas troqueladas con un código de agujeros para identificar cada ejemplar. Fotos A, B y C, Maite Vázquez-Luis. Foto D, Agustín Barraón. Foto E, Santiago Jiménez.

Durante la primera visita todos los ejemplares encontrados se medirán (ancho máximo), cartografiarán y se identificarán con la marca más adecuada al tamaño del animal. En las visitas anuales se volverán a cartografiar las parcelas y se revisará la supervivencia o mortalidad de los individuos marcados inicialmente. También se buscarán ejemplares jóvenes no marcados (reclutas), que serán marcados y cartografiados para su seguimiento posterior. Además de su estado, se tomarán medidas de la anchura máxima de la valva con el fin de valorar la estructura de tallas de la población anualmente.

En cada revisión anual es importante tener en cuenta que las marcas tienen una duración variable y que necesitan revisión y mantenimiento. Por ejemplo las marcas de masilla son muy visibles pero la etiqueta numerada con el tiempo se epifita y es necesario rascarla para ver el número. En el caso de las piquetas, a menudo se pierden, y necesario ir revisándolas y reponiéndolas anualmente.

#### DEMOGRAFÍA: Resultados

Los parámetros demográficos requieren seguimientos a largo plazo para obtener datos de reclutamiento y mortalidad. El primer año se obtiene el estado cero de los individuos



marcados y cartografiados, que serán visitados y revisados anualmente. Los resultados se expresan en forma de tasas demográficas anuales de la población: tasa de mortalidad, tasa de reclutamiento y tasa de crecimiento neto de la población. También obtendremos la estructura de tallas de la población en número de individuos y en porcentaje.

#### **Calculo de las tasas demográficas:**

Para el cálculo de las tasas demográficas (tasa de mortalidad, reclutamiento y crecimiento neto) se han aplicado las fórmulas propuestas para esta especie (García-March *et al.*, 2006).

La **tasa de mortalidad específica M** (año<sup>-1</sup>) se calcula a partir de la fórmula:

$$N_2/N_1 = e^{-Mt}$$

dónde  $N_1$  es el número de individuos marcados que se censaron en la primera visita,  $N_2$  es el número total de individuos que se censaron en la segunda visita y  $t$  (días) el tiempo transcurrido entre los censos.

La **tasa de nacimiento o reclutamiento específica R** (año<sup>-1</sup>) se ha estimado como:

$$N_2 = N_1 \cdot e^{Rt}$$

dónde  $N_1$  es el número inicial de individuos marcados de la parcela,  $N_2$  es el número total de individuos censados durante la segunda visita y  $t$  (días) el tiempo transcurrido entre los censos.

La **tasa de crecimiento neto  $\mu$**  (año<sup>-1</sup>) de la población de *P. nobilis* se calcula como la diferencia entre la tasa de mortalidad y la de reclutamiento:

$$\mu = M - R$$

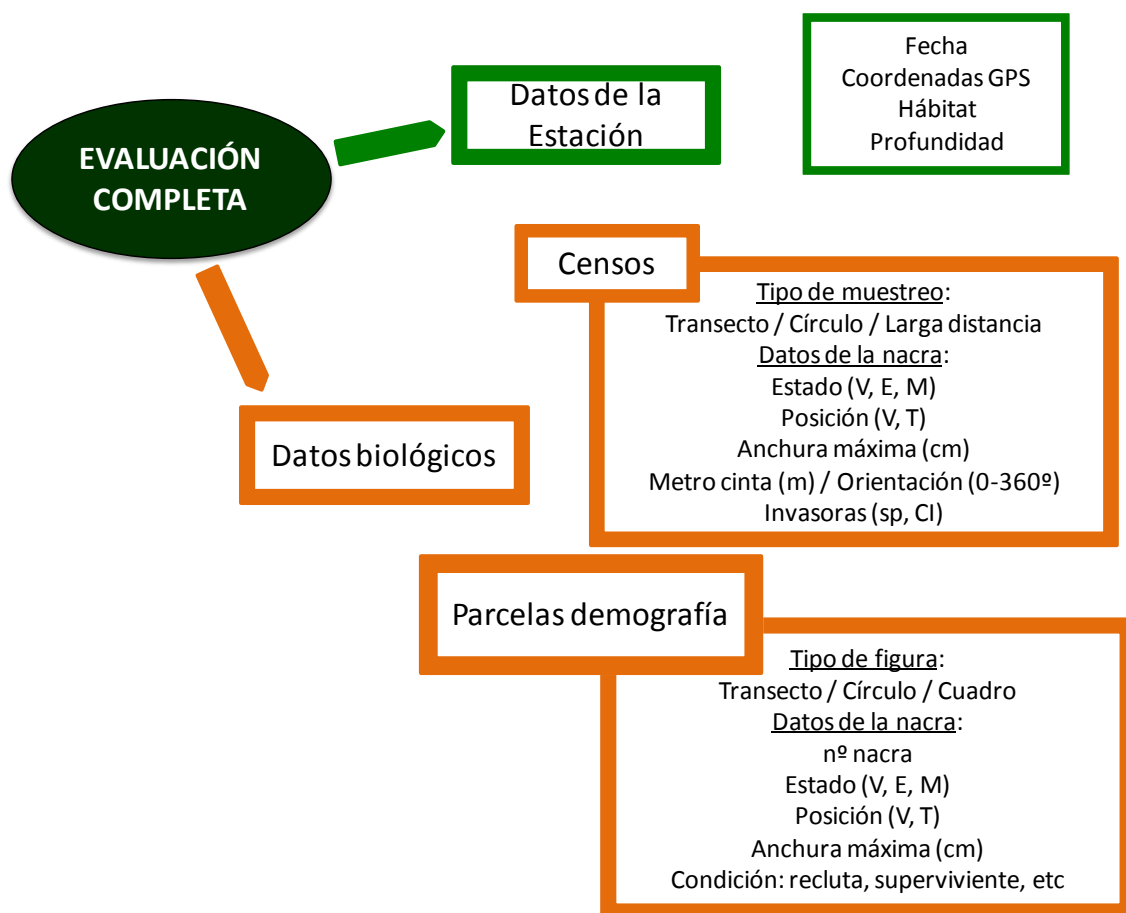
La tasa de crecimiento neto de la población ( $\mu$ ) proporciona una idea, en número de individuos, de la evolución de una población. Para determinar tendencias demográficas es necesario realizar seguimientos continuados en el tiempo, mediante los que es posible observar como varía la densidad de la población entre años. Esta evolución tiende a cero si la densidad de la población se mantiene estable ( $\mu = 0$ ), está en expansión ( $\mu > 0$ ) o en regresión ( $\mu < 0$ ).

#### **DEMOGRAFÍA: Periodicidad**

Se propone que el seguimiento sea de carácter anual, que se realice preferentemente en otoño-invierno, coincidiendo con la menor longitud de las hojas de *Posidonia oceánica*, que permite la detección de reclutas y juveniles de *P. nobilis*.



A continuación se presenta un esquema resumen de los descriptores propuestos en la Evaluación completa de las poblaciones de *Pinna nobilis*:



Se ha elaborado también un ejemplo de Estadillo para la recogida de datos de cada muestreo (Figura 14).



### ESTADILLO DE DATOS (EJEMPLO)

Fecha: \_\_\_\_\_  
 Observador: \_\_\_\_\_  
 GPS (datum): \_\_\_\_\_  
 Latitud: \_\_\_\_\_  
 Longitud: \_\_\_\_\_

Muestreo: Puntual Monitoreo  
 Hábitat: \_\_\_\_\_  
 Tª del agua: \_\_\_\_\_  
 Profundidad: \_\_\_\_\_

nº Transecto nº Círculo	Profundidad (m)	Pinna (n)	Estado (V, E, M)	Posición (V, T)	Anchura máx (cm)	Metro de cinta (m)	Invasoras (sp)	Cobertura (C0-C4)	Observaciones

Figura 14. Ejemplo de estadillo para la recogida de datos para los censos de poblaciones de *Pinna nobilis*. Cada fila corresponde al dato de cada uno de los ejemplares observados.





#### 4. BIBLIOGRAFÍA

Alomar C, Vázquez-Luis M, Magraner K, Lozano L, Deudero S. 2015. Evaluating stable isotopic signals at bivalve *Pinna nobilis* under different human pressures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*; 467: 77-86.

Ballesteros E., Cebrian E. and Alcoverro T. (2007) Mortality of shoots of *Posidonia oceanica* following meadow invasion by the red alga *Lophocladia lallemandii*. *Botanica Marina* 50, 8–13.

Banach-Esteve, G., Vazquez-Luis, M., Deudero, S., 2015. Is invasive macroalgae *Lophocladia lallemandii* inducing changes on epiphyte community of endemic bivalve *Pinna nobilis*. *Thalassas* 31 (2), 19–29.

Basso L, Vázquez-Luis M, García-March JR, Deudero S, Alvarez E, Vicente N. 2015. The pen shell *Pinna nobilis*, state-of-the-art, research priorities and best practices. *Advances in Marine Biology*.: in press.

Deudero, S., Grau, A., Vázquez-Luis, M., Álvarez, E., Alomar, C., Hendriks, I.E. 2017. Reproductive investment of the pen shell *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 in Cabrera National Park (Spain). *Mediterranean Marine Science*, *in press*. DOI: 10.12681/mms.1645

Deudero S, Vázquez-Luis M, Alvarez E. 2015. Human stressors are driving coastal benthic long-lived sessile *Pinna nobilis* population structure more than environmental stressors. *PlosONE* 10(7): e0134530. doi:10.1371/journal.pone.0134530, 1-14

García-March, J.R. 2003. Contribution to the knowledge of the status of *Pinna nobilis* (L.) 1758 in Spanish coasts. *Mem. Inst. Oc. Paul Ricard*: 29-41.

García-March, J.R. & Vicente, N. 2006. Protocol to study and monitor *Pinna nobilis* populations within Marine Protected Areas. *MedPan-Interreg IIIC*.

Garcia-March, J.R., Garcia-Carrascosa, A.M., Cantero, A.L.P. & Wang, Y.G. 2007. Population structure, mortality and growth of *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 (Mollusca, Bivalvia) at different depths in Moraia bay (Alicante, Western Mediterranean). *Marine Biology* 150: 861-871.

García-March, J.R., Márquez-Aliaga A. 2007. *Pinna nobilis* L., 1758 age determination by internal shell register. *Marine Biology* 151:1077–1085.

García-March, J.R., Márquez-Aliaga A., Wang Y.G., Kersting D.K. 2011. Study of *Pinna nobilis* growth from inner record: How biased are posterior adductor muscle scars estimates?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 407: 337–344.

Hendriks I, Tenan S, Tavecchia G, Marbà N, Jordà G, Deudero S, *et al.*. 2013. Boat anchoring impacts coastal populations of the pen shell, the largest bivalve in the Mediterranean. *Biological Conservation*; 160: 105-113.

Katsanevakis, S. 2007. Growth and mortality rates of the fan mussel *Pinna nobilis* in Lake Vouliagmeni (Korinthiakos Gulf, Greece): a generalized additive modelling approach. *Marine Biology* 152: 1319-1331.

Marba, N., Duarte, C.M., Cebrian, J., Gallegos, M.E., Olesen, B. & Sandjensen, K. 1996. Growth and population dynamics of *Posidonia oceanica* on the Spanish Mediterranean coast: Elucidating seagrass decline. *Marine Ecology- Progress Series* 137: 203-213.

Templado, J., Calvo, M., A., G., Luque, A.A., Maldonado, M. & Moro, L. 2004. Guía de invertebrados y peces marinos protegidos por la legislación nacional e internacional. Madrid.



Vázquez-Luis, M., Banach-Esteve, G., Álvarez, E., Deudero, S. 2014. Spread of the invasive seaweed *Lophocladia lallemandii* on the bivalve *Pinna nobilis* in a Marine Protected Area. Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom 1-8, DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S002531541400037X>

Vázquez-Luis M, Borg JA, Morell C, Banach-Esteve G, Deudero S. 2015. Influence of boat anchoring on *Pinna nobilis*: a field experiment using mimic units. Marine and Freshwater Research. Available: <http://dx.doi.org/10.1071/MF14285>

Vázquez-Luis M., Álvarez E., Barrajón A., Catanese G., García-March J.R., Grau A., Hendriks I.E., Jiménez S., Kersting D., Moreno D., Moreno de Pintos M., Pérez M, Ruiz J., Sánchez J., Valencia J.M., Villalba A., Deudero S. 2017. S.O.S. *Pinna nobilis*: a mass mortality event in western Mediterranean Sea. Frontiers in Marine Science, submitted

Zavodnik, D., Hrs-Brenko, M. & Legac, M. 1991. Synopsis on the fan shell *Pinna nobilis* L. in the eastern Adriatic sea. In: Boudouresque, CF, Avon M, Gravez V (eds) Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée. Posidonie publ. Marseille. Marseille 169-178

